

## 허혈 및 재관류한 흰쥐 심장에 미치는 인삼의 영향

金 炳 采 · 金 洛 斗

서울대학교 藥學大學

(Received January 28, 1988)

### Effects of Ginseng on Global Myocardial Ischemia and Reperfusion in the Rat Heart

Byung Chae Kim and Nak Doo Kim

College of Pharmacy, Seoul National University Seoul 151, Korea

**Abstract**—The effect of Ginseng on global myocardial ischemia and reperfusion was examined in isolated perfused rat hearts. The Ginseng ethanol extract (100mg/kg/day) was administered orally for 10 days. The rat hearts were removed and perfused at 75cm H<sub>2</sub>O by the Langendorff method. After 25 min. of global ischemia, the hearts were reperfused. The myocardial contents of adenosine 5'-triphosphate, creatine phosphate, and calcium were assayed. There no differences in ATP levels in all group of normal and Ginseng-treated hearts. Both in non-ischemic and ischemic heart, Ginseng increased significantly tissue creatine phosphate levels compared with control. Whereas, in ischemic-reperfused heart, there was no significant difference. In the control groups, myocardial calcium contents in the ischemic hearts were decreased compared with the non-ischemic hearts. But, in the Ginseng-treated groups, the calcium contents in the ischemic herts were not changed with the nonischemic hearts. Therefore, Ginseng appears to exert its protective effect against ischemic heart condition, not against ischemic-reperfused heart condition, by regulating energy metabolism and maintaing cellular function.

적출심장에 무산소증 또는 허혈을 유발시키면 심근 세포 손상이 나타난다.<sup>1,2)</sup> 무산소증 또는 허혈의 유발시간이 충분히 길어지면 산소를 재공급 하였을때 또는 관류액을 재관류 시켰을때 오히려 세포손상 정도가 더욱 악화되는 역설적인 현상이 나타난다.<sup>1,3,4)</sup> 허혈후 재관류로 인하여 심근 세포 손상을 일으키는 요인들이 많이 알려져 있으며, 심근 수축력의 감소<sup>5)</sup>, 광범위한 세포구조의 파괴<sup>6-9)</sup>, 빠르고 다량의 세포내 내용물의 유리<sup>4,10,11)</sup>, adenosine 5'-triphosphate (ATP)와 creatine phosphate 등의 고 에너지 인산량의 감소<sup>12,23)</sup>, 조직내 전해질량의 변화 특히 K<sup>+</sup>이온의 유리<sup>14)</sup>, Na<sup>+</sup>이온과 Ca<sup>2+</sup>이온의 유입<sup>15-17)</sup> 등이 보고되어 있다.

APT는 심근 수축시 직접적인 에너지 원으로 쓰이므로 허혈로 기인한 여러가지 생화학적 변화중에서 조직내 ATP량의 감소가 특히 중요한 의미를 지닌다. 적출 심장을 허혈시키면 수축력

과 ATP량의 감소를 가져오는데 즉시 재관류시키면 수축력은 원래상태까지 회복된다.<sup>12,18)</sup> 그러나 허혈시간이 길어질에 따라 재관류시 수축력회복 정도도 줄어든다.<sup>12,18-21)</sup> ATP량은 극히 짧은 시간의 허혈만으로도 재관류에 의해 완전히 원래 상태까지 회복되지 못한다.<sup>22,23)</sup> Dobbs<sup>24)</sup> 등은 심폐 수술시 심장을 보호하기 위하여 쓰이는 cardioplegic 용액으로 인한 심장 정지 허혈시에도 ATP량이 감소되었다고 보고하였다. 허혈전에 ATP를 투여하면 허혈후 재관류시 심근세포에 대하여 보호작용이 있다는 보고도 있다.<sup>25,26)</sup> Reimer<sup>27)</sup> 등은 ATP량의 감소와 고에너지 인산의 재생능력의 감소, 세포외형 보존 능력의 감소, 세포 투과성 이온의 농도 구배유지 능력의 감소와 상관성이 있다고 보고하였다. 최근에는 심내근 ATP량과 심근 수축력과도 상관성이 있음이 입증되었다.<sup>12,18-20)</sup> 그러므로, 심근 수축력과 심근내 ATP량은 재관류한 적출 심장의 회복

정도를 나타내는 중요 지표가 된다.

Katz<sup>28)</sup> 등은 심근 수축이완 운동은 세포내 Ca<sup>2+</sup> 이온 농도 이동에 따라서 조절된다고 보고하였다. 그러므로, 재관류시 나타나는 심근 수축력의 변화 또한 세포내 Ca<sup>2+</sup>이온 농도 이동의 변화를 수반한다. Shen<sup>29)</sup> 등은 40분간 허혈후 재관류한 개의 심근 세포내에서 Ca<sup>2+</sup>이온량이 10~20배 증가되었음을 관찰 하였다. Narita<sup>30)</sup> 등은 재관류시 심근의 이완기 압력이 상승하는 것은 세포내 Ca<sup>2+</sup>이온 농도의 증가로 기인되었다고 보고하였다. Ca<sup>2+</sup> 길항제인 diltiazem을 사용하면 재관류시 ATP 합성 능력이 보존되고<sup>31,32)</sup>, 수축력이 회복되며 세포 괴사 정도를 억제한다는 보고<sup>33,34)</sup>가 있으므로, 재관류시 나타나는 심근 세포 손상 현상에 대한 정확한 기전은 모르지만, Ca<sup>2+</sup>이온 항상성과 관련이 있음을 보여 주고 있다. 이를 바탕으로 한 치료법으로 Ca<sup>2+</sup>이온의 세포내 유입량을 억제하는 방법을 연구 중인데 이에 크게 재관류 초기에 낮은 Ca<sup>2+</sup>이온 농도를 갖는 완충용액을 관류하는 방법<sup>35,36)</sup>이 있고, 다른 방법으로는 Ca<sup>2+</sup> 길항제를 허혈전에 투여하는 방법<sup>37,38)</sup>이 있다.

Brekhman<sup>39)</sup> 등은 인삼의 효과는 정상 상태에서 보다 병적인 상태에서 비특이적인 저항력을 나타낸다고 보고하였다. 김<sup>40-42)</sup> 등은 인삼 엑기스를 경구투여한 흰쥐의 적출심장에서 수축력 퇴화 정도가 대조군에 비해 지연됨을 관찰하였고, Sung<sup>43)</sup> 등은 인삼이 시간 경과에 따른 sarcoplasmic reticulum에 의한 Ca<sup>2+</sup>이온 유입기능의 약화를 지연함을 보고하였다. 이에 저자는

ATP량과 creatine phosphate량 그리고 Ca<sup>2+</sup>이온량을 기준으로 허혈 및 재관류시 나타나는 세포 손상에 대해 인삼의 효과를 검토하기 위하여 본 실험을 실시하였다.

**실험 방법**

**실험재료**

**인삼 Ethanol Extract**—시중에서 구입한 금산산 4~5년근 백삼을 분절하여 70% ethanol로 70°C에서 추출하고, 이 추출액을 rotary evaporator에서 감압 농축하여 분말 상태로 조제한 것을 사용하였다.

**실험동물**—서울대학교 실험동물사육장에서 구입한 체중 200~300g의 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 랫트를 전 실험에 사용하였다.

**실험방법**

실험군은 Table I에서와 같이 비허혈 심장군(NIH), 허혈 심장군(IH) 그리고 허혈후 재관류한 심장군(IRH)등 3군으로 하고, 또 그 각군을 인삼 투여군과 대조군으로 나누었다. 인삼 투여군은 인삼 에탄올 엑기스를 2차 증류수에 용해하여 100mg/kg의 용량으로 1일 1회 10일간, 2ml 씩 경구 투여 하였다.

1) **심장의 관류**—Neely<sup>44)</sup> 등에 의한 방법에 따라 적출심장의 관류를 실시하였다. 심장 적출 2시간 전에 heparine sodium(2~3mg)을 복강내 주사하였다. Ether로 가볍게 마취시킨후 심장을 적출하여 빙냉한 Krebs-Henseleit bicarbonate 완충 용액이 들어있는 petri-dish에 넣고 지방 및

**Table I**—Experimental groups

GROUP I	Control	Nonischemic heart (NIH)
	Ginseng-treated	RGP 10 min. +WHP 55 min.
GROUP II	Control	Ginseng treated ischemic heart (IH)
	Ginseng-treated	RGP 10 min. +WHP 5 min. +ischemia 25 min.
GROUP III	Control	Ischemic-reperfused heart (IRH)
	Ginseng-treated	RGP 10 min.+WHP 5 min. +ischemia 25 min. +RGP 5 min. +WHP 20 min.

Above abbreviations are used as follow; RGP, retrograde perfusion; WHP, working heart perfusion.

결합조직을 제거하였다. Stainless steel cannula를 대동맥에 삽입하여 결찰한 다음 Langendorff 장치(Fig. 1)에 현수하였다. 관류액의 조성은 NaCl 118mM, KCl 4.7mM, CaCl<sub>2</sub> 3.0mM, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1.2mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2mM, NaHCO<sub>3</sub> 25mM, Na<sub>2</sub>EDTA 0.5mM, glucose 5.5 mM로 하였다. 실험중 관류액에 95% O<sub>2</sub>~5% CO<sub>2</sub> 혼합가스를 계속 공급하여 포화시켰으며 온도는 38°C로 유지시켰다. 관류액은 glass filter로 여과한 후 peristatic pump로 순환시켰다. 대동맥 압력은 aortic bubble trap을 심장에서 75cm위에 장치하여 유지하였고, 좌심실 압력은 atrial bubble trap을 심장에서 10cm 위에 장치하여 유지하였다. Retrograde perfusion (RGP)은 대동맥 압력으로 관류액을 대동맥 cannula를 통하여 유입하여 실시하였고, working heart perfusion(WHP)은 대동맥 압력과 좌심실 압력을 유지하고 대동맥 cannula와 좌심실 cannula를 모두 열어 심장운동에 의해 관류액이 pressure chamber로 유출되도록 하여 실시하였다. 대동맥 cannula에 연결된 tube에 pressure transducer를 부착하여 대동맥 cannula를 10초동안 막은 상태에서 압력변화와 심장박동수를

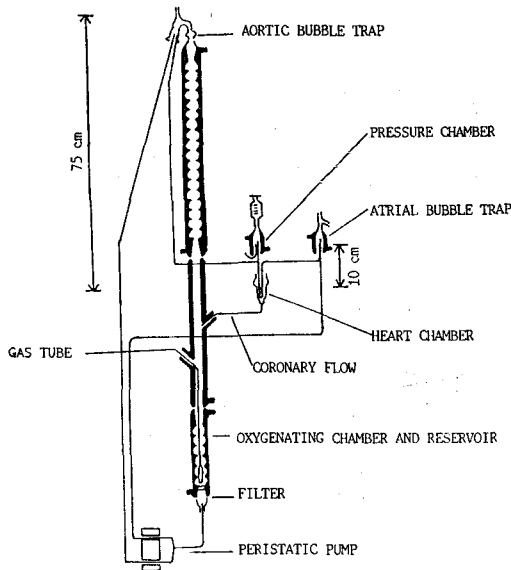
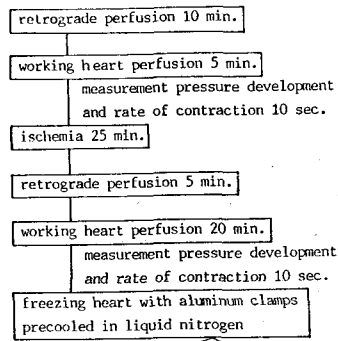


Fig. 1—Perfusion apparatus for ischemic hearts. Water jackets are indicated by black shading.



tissue acid extraction for ATP and creatine phosphate assay      Ca<sup>2+</sup> assay with atomic absorption spectrophotometer

Fig. 2—Flow scheme for the preparation of ischemic-reperfused heart samples.

physiograph(Washington 400MD 4C)로 측정하였다.

비허혈 심장군(NIH)은 다음과 같은 조작을 가하였다. 심장을 현수한 다음 아무런 외부자극을 가하지 않은채 10분동안 RGP을 하여 피를 제거하고 심장을 안정화 시켰다. 이 10분동안에 폐정맥을 통하여 cannula를 좌심실에 삽입하고 결찰하였다. 이때의 관상 혈류 유출 속도는  $30.2 \pm 0.1$  ml/min/g dry wt.이었다. 그후 95분 동안 WHP를 실시하였다.

허혈 심장군(IH)은 다음과 같은 조작을 가하였다. RGP을 10분동안 한 후 5분동안의 WHP을 하고 좌심실과 대동맥 cannula를 모두 막은 상태로 38°C에서 25분동안 유지하여 global ischemia를 유발시켰다.

허혈 후 재관류한 심장군(IRH)은 Fig. 2와 같이 허혈 심장군과 같은 조작을 한 후 5분동안의 RGP을 하고 WHP을 20분동안 실시하여 조작을 끝마치었다.

2) ATP와 creatine phosphate의 추출 및 정량—(1) 추출—Williamson<sup>45)</sup> 등의 방법을 사용하여 ATP와 creatine phosphate를 추출하였다. 관류가 끝난 심장을 미리 액체 질소로 얼린 aluminum clamp로 신속하게 얼린후 -60°C 냉장고에서 보관하였다. ATP와 creatine phosphate 측정에는 이 심장을 미리 액체질소로 얼린 mortar에서 분말로 한 후 이것을 dry ice에서

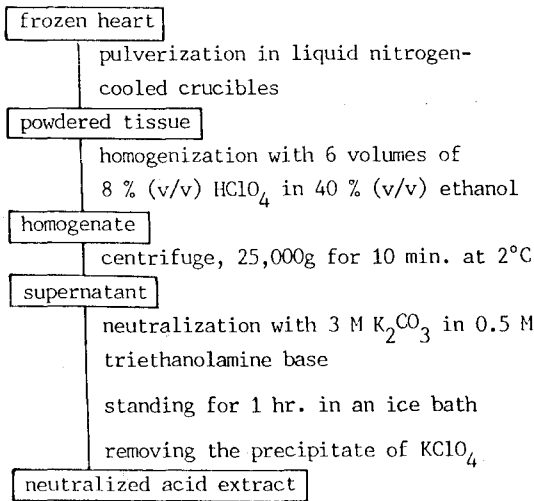


Fig. 3—Preparation of tissue acid extract for the enzymatic determination of ATP and creatine phosphate.

빙냉하여 평량한 10ml homogenizing tube에 넣었다. 이 tube의 무게를 평량한 후 8%(v/v) HClO<sub>4</sub>가 함유된 40%(v/v) EtOH을 조직 g당 6배의 용량을 가하여 균질화하였다. 이것을 15ml짜리 원심 분리용 시험관에 옮기고 2°C, 25,000g에서 10분동안 원심분리 하였다. 상등액 일정량을 시험관으로 옮긴후 시험관을 계속 흔들어 주면서 0.5M triethanolamine염이 함유된 3M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 pH를 6~7로 하여 중화시켰다. 4°C에서 1시간동안 방치한후 상등액을 시험용액으로 하였다. Fig. 3에 이 조작순서를 나타내었다. 시험용액은 -20°C에서 정량하기전(2일이내)까지 보관하였다.

(2) 정량—Lamprecht<sup>46)</sup> 등에 의한 방법으로 ATP와 creatine phosphate를 정량하였다. UV cell에 triethanolamine 완충용액(50mM : pH 7.5~7.6) 2270μl, NADP용액(10mM) 100μl, MgCl<sub>2</sub>용액(0.1M) 200μl, glucose-6-phosphate dehydrogenase용액 (1mg protein/ml) 10μl, 시험용액 200μl를 혼화하고 흡광도가 일정하여지면 glucose용액(0.5M) 300μl를 주입한 후 바로 흡광도(E<sub>1</sub>)를 340nm에서 측정하였다. 그후 30초 이내에 hexokinase용액(2mg protein/ml) 20μl를 넣고 15분후에 흡광도(E<sub>2</sub>)를 측정하였

다. 그후 ADP용액(22mM) 20μl를 넣고 흡광도가 일정해질 때까지 기다려 흡광도(E<sub>3</sub>)를 측정하였다. Creatine kinase용액(5mg protein/ml) 10μl를 넣고 15분후에 흡광도(E<sub>4</sub>)를 측정하였다. E<sub>2</sub>-E<sub>1</sub>의 값을 ATP에 의한 흡광도, E<sub>4</sub>-E<sub>3</sub>의 값을 creatine phosphate에 의한 흡광도로 하여 계산하였다.

3) 심근내 총 Ca<sup>+2</sup>량의 정량—Dolara 등<sup>47,48)</sup>의 방법을 사용하여 심근내 총 Ca<sup>+2</sup>량을 측정하였다. 2)의 (1) 추출시의 심장분말을 12시간동안 110°C oven에서 건조한 후 hood내에서 건조 g당 약 10배량의 농후 HNO<sub>3</sub>를 가하여 조직을 digestion 시키고 또 10배량의 농후 HCl을 가하였다. 이 염산 용액을 가열하여 완전히 건조시켜 chloride염 형태인 Ca<sup>+2</sup>을 얻었다. 이것을 1% LaCl<sub>3</sub>가 함유된 5% HCl용액에 녹여 atomic absorption spectrophotometer(Tokyo Photo Electric Co., Ltd. Japan. Model ANA-180)로 Ca<sup>+2</sup>량을 정량하였다.

4) 통계처리—두 군간의 유의성 검정은 2-tail probability t-test로써 하였다.

### 실 험 결 과

인삼이 Cardiac function에 미치는 영향—Cardiac function은 관류초기 15분후에 측정된 대동맥 수축기 최대 압력과 그때의 심박율을 곱한 값을 기준으로 하여, 관류가 완전히 끝난때인 65분후에 측정된 값을 %로 나타내었다.

인삼 처리군과 대조군 각군에 대하여 비허혈 심장군(NIH)과 허혈후 재관류한 심장군(IRH)의 cardiac function을 비교하면 Fig. 4와 같다.

NIH군에서는 cardiac function이 87.3±11.1%이었으며, IRH군에서는 28.1±5.0%로 IRH군의 cardiac function은 NIH군의 32%의 값을 나타내었다. 인삼처리한 NIH군에서의 cardiac function은 86.1±8.1%, IRH군에서는 30.9±4.0%로 각군에 대하여 인삼 처리군과 대조군의 유의성 있는 cardiac function변화를 보이지 않았다.

인삼이 조직내 ATP량에 미치는 영향—NIH군

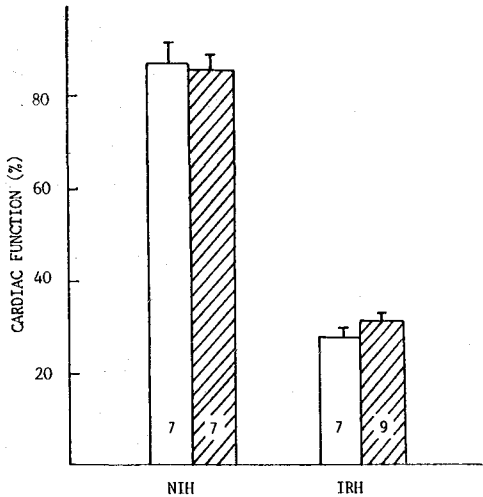


Fig. 4—Cardiac function (mean±S.E.) of nonischemic and ischemic-reperfused hearts. (□, control; ▨, Ginseng-treated). Numbers within bars refer number of hearts in each treatment.

과 IH군 그리고 IRH군 각군에 대한 심근조직내 ATP량은 Fig. 5와 같다.

NIH군에서의 ATP량은  $13.45 \pm 0.055 \mu\text{M/g}$  dry wt.이었으며, IH군에서는  $6.76 \pm 0.95 \mu\text{M/g}$  dry wt.로 NIH군에 비하여 50% 낮은 값을 나타내었다

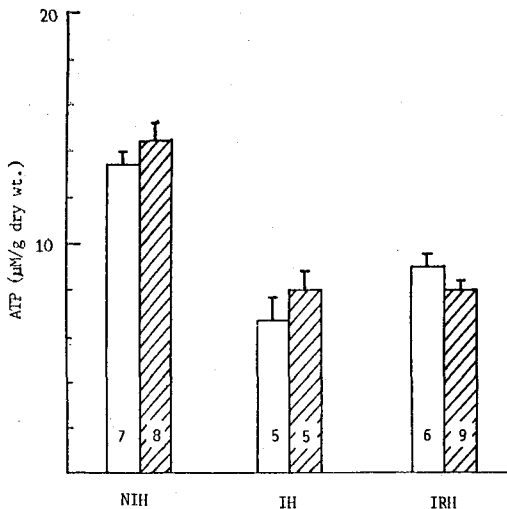


Fig. 5—Concentration (mean±S.E.) of ATP in nonischemic, ischemic and ischemic-reperfused hearts. (□, control; ▨, Ginseng-treated). Numbers within bars refer to number of hearts in each treatment.

다. IRH군에서의 ATP량은  $9.04 \pm 1.27 \mu\text{M/g}$  dry wt.로 IH군보다는 34% 증가된 값을 나타내었으나, NIH군에 비해서는 33% 낮은 값을 나타내었다.

인삼 처치군에서는 NIH군의 ATP량이  $14.48 \pm 0.70 \mu\text{M/g}$  dry wt., IH군에서는  $8.12 \pm 0.77 \mu\text{M/g}$  dry wt.로 대조군에 비하여 약간 높은 경향을 보였으나, IRH군에서는  $8.13 \pm 1.17 \mu\text{M/g}$  dry wt.로 오히려 약간 낮은 값을 나타내었다.

인삼이 조직내 Creatine Phosphate량에 미치는 영향—NIH군과 IH군 그리고 IRH군 각군에 대한 creatine phosphate량을 Fig. 6에 나타내었다.

NIH군에서의 creatine phosphate량은  $14.48 \pm 0.70 \mu\text{M/g}$  dry wt.이었고 IH군에서는  $9.48 \pm 0.48 \mu\text{M/g}$  dry wt.로 NIH군에 비하여 35% 낮은 값을 나타내었다. IRH군에서의 creatine phosphate량은  $13.76 \pm 1.49 \mu\text{M/g}$  dry wt.로 IH군에 비하여 45% 증가된 값을 나타 내었고 NIH군에 비하여서는 5% 감소된 값을 나타 내었다.

인삼처치군에서는 creatine phosphate값은 NIH

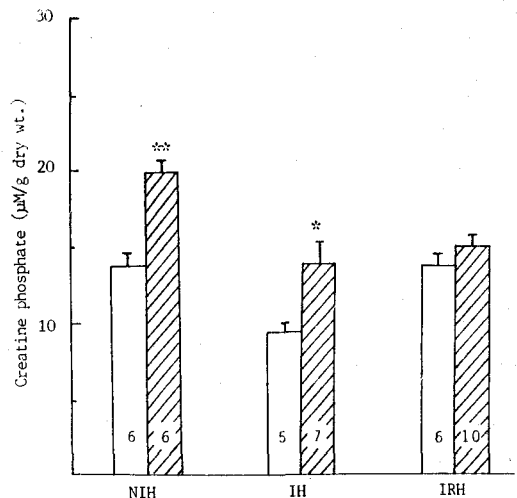


Fig. 6—Concentration (mean±S.E.) of creatine phosphate in nonischemic, ischemic and ischemic-reperfused hearts. (□, control; ▨, Ginseng-treated). Numbers within bars refer to number of hearts in each treatment.

\*; Indicates a significant difference between control and Ginseng-treated. (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ).

군이  $19.92 \pm 0.73 \mu\text{M/g dry wt.}$ 로 대조군에 비하여 유의성 있는 45% 높은 값을 나타내었으며, IH군에서는  $13.98 \pm 1.33 \mu\text{M/g dry wt.}$ 로 대조군에 비하여 유의성 있는 47% 높은 값을 나타내었다.

IRH군에서의 creatine phosphate값도  $15.12 \pm 2.03 \mu\text{M/g dry wt.}$ 로 대조군에 비하여 10% 높은 값을 나타내었으나 유의성은 없었다.

인삼이 심근내 총  $\text{Ca}^{+2}$ 량에 미치는 영향—NIH군과 IH군 그리고 IRH군 각군에 대한 심근내  $\text{Ca}^{+2}$ 량은 Fig. 7과 같다.

NIH군에서의  $\text{Ca}^{+2}$ 량은  $6.35 \pm 0.39 \mu\text{M/g dry wt.}$ 이었다. IH군에서의  $\text{Ca}^{+2}$ 량은  $4.82 \pm 0.45 \mu\text{M/g dry wt.}$ 로 NIH군에 비하여 24% 낮은 값을 나타내었다. IRH군에서의  $\text{Ca}^{+2}$ 량은  $9.09 \pm 0.87 \mu\text{M/g dry wt.}$ 로 NIH군에 비하여서는 43% 높은 값을 IH군에 비하여서는 89% 높은 값을 나타내었다.

인삼처리군에서의  $\text{Ca}^{+2}$ 량은 NIH군에서  $5.78 \pm 0.25 \mu\text{M/g dry wt.}$ , IH군에서는  $5.42 \pm 0.29 \mu\text{M/g dry wt.}$  그리고 IRH군에서는  $10.06 \pm 0.71 \mu\text{M/g dry wt.}$ 로 대조군과 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다.

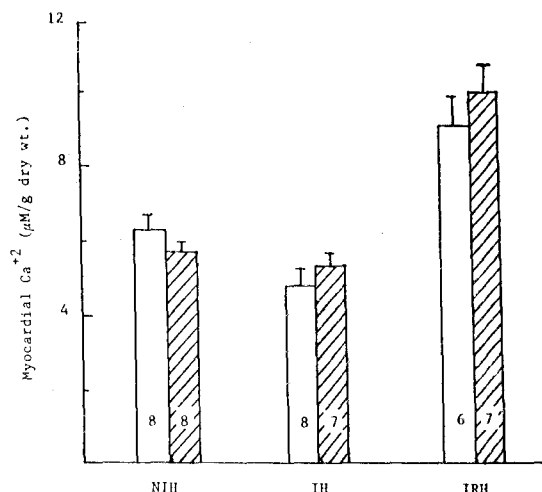


Fig. 7—Myocardial  $\text{Ca}^{+2}$  contents (mean  $\pm$  S.E.) in nonischemic, ischemic and ischemic-reperfused hearts. (□, control; ▨, Ginseng-treated). Numbers within bars refer to number of hearts in each treatment.

고 찰

적출 심장을 허혈후 재관류 시켰을 때 나타나는 세포손상을 일으키는 기전은 그 요인들이 많고 또 서로 연관되어 있어 명확히 밝혀져 있지 않으나, 저농도( $<50 \mu\text{M}$ )의  $\text{Ca}^{+2}$ 이온을 함유하는 영양액을 수분간 관류시킨 후 정상농도의  $\text{Ca}^{+2}$ 이온을 함유하는 액을 관류시켰을 때 나타나는 “Calcium Paradox”<sup>10,49)</sup>라는 현상에서의 많은 점들이 일치한다.

Kramer<sup>50)</sup> 등은 허혈후 재관류시 허혈시간이 심근 수축력과 세포손상정도를 결정한다고 보고하였다. 또한 Langer<sup>51)</sup> 등은 허혈시간이 심근세포에서의  $\text{Ca}^{+2}$ 이온의 유출량과 세포막 주위에서의  $\text{Ca}^{+2}$ 이온의 유출량정도를 결정하며, 재관류시의  $\text{Ca}^{+2}$ 이온의 유입량도 결정한다고 보고하였다. Hearse<sup>52)</sup> 등에 의하면 허혈후 재관류시 1~2.5mM의  $\text{Ca}^{+2}$ 이온을 함유하는 관류액을 관류시키면 완전한 calcium paradox를 일으키는데 이때의 실험 재현성이 가장 좋다고 보고하였다.

본 실험에서는 재현성을 높이기 위하여 관류액중의  $\text{Ca}^{+2}$ 이온 농도를 심근 세포내 유리  $\text{Ca}^{+2}$ 이온 농도의 2배인 2.5mM로 하였고 허혈시간은 회복될 수 없는 완전한 세포손상 정도를 나타내는 25~30% cardiac function을 갖는 시간인 25분으로 하였다.

또 재관류 시간도 심근 세포내  $\text{Ca}^{+2}$ 이온 축적 시간 곡선이 포화를 이루는 25분<sup>15,16)</sup>으로 하였다.  $\text{Ca}^{+2}$ 이온의 양은 세포내 유리  $\text{Ca}^{+2}$ 이온량으로 나타내어야 그것이 지니는 생리적 의의가 크나, 기존의 Tomlinson<sup>53,54)</sup> 등에 의한 수치처리  $\text{Ca}^{+2}$ 정량법은 세포의 분획을 완전히 제거하지 못하며 ATP량 등의 에너지 파괴를 가져오므로 ATP와  $\text{Ca}^{+2}$ 이온의 동시 정량이 불가능하다. 또한 심근내 총  $\text{Ca}^{+2}$ 량으로도 calcium paradox현상을 관찰할 수 있으므로 본 논문에서는 심근내  $\text{Ca}^{+2}$ 량으로 보고하였다.

인삼은 장기 연용시 심근 수축력과 심근내 ATP량에는 별 영향이 없었으나 심근내 creatine phosphate농도를 증가시키는 효과가 관찰되었다.

이는 Lee<sup>55)</sup> 등이 보고한 마우스에 인삼 추출물을 4주간 투여(10mg/day)하였을때 인삼투여군에서 인삼 비투여군 보다 심근 조직내 creatine phosphate량이 현저히 증가하였던 결과와 일치한다.

인삼이 심근내 creatine phosphate량과 심근내  $Ca^{+2}$ 이온의 양에 미치는 효과를 보면 creatine phosphate 값은 인삼의 장기연용으로 정상군에서 보다 증가된 상태를 나타내었으며 허혈을 시킬 때 인삼투여군에서도 대조군과 비례하여 creatine phosphate 량이 감소되기는 하나 허혈시킨 대조군에서 보다 유의성 있는 높은 값을 유지하고 있었다. 한편 심근내  $Ca^{+2}$ 이온량은 허혈로 인하여 감소되었으나 인삼처리군에서는 비허혈군과 유사한 값을 유지하고 있었다. 이는 인삼투여로 인하여 creatine phosphate 값이 높아 있기 때문에 허혈을 시킬때에도 심장기능 유지에 필요한 에너지를 유지하고 있다고 보며 또한  $Ca^{+2}$ 이온량도 비허혈시와 같은 농도를 유지하고 있기때문에 심기능을 유지하고 있다고 추측할 수 있다.

그러나 허혈후 재관류시에는 대조군에서와 마찬가지로 심기능이 억제되어 creatine phosphate 량과  $Ca^{+2}$ 이온량 모두가 대조군에서와 같은 수준을 유지하고 있었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 본 실험 모델에서 인삼은 허혈후 재관류시 즉 심기능이 심히 억제된 상태에서는 효과를 나타내지 못하나 심기능이 심히 억제되지 않은 허혈 상태에서는 심근내에서 고에너지를 보유함으로써 심기능을 정상상태로 유지하려는 예방효과를 나타내는 것으로 사료된다.

## 결 론

허혈 및 재관류 함으로써 심부전을 일으키는 모델을 사용하여 인삼이 심기능에 미치는 효과를 관찰하였다. 인삼을 10일간 100mg/kg단위로 rat에 경구 투여한 후 심장을 적출하고 Langendorff장치를 사용하여 비허혈 심장군(NIH)과 허혈심장군(IH) 그리고 허혈후 재관류한 심장군(IRH)를 만들었다. 이 3개군에서 인삼처리군과

인삼 비처리군의 cardiac function과 심근내 ATP 농도, 심근내 creatine phosphate농도 및 심근내  $Ca^{+2}$ 이온량을 비교 측정하였다. 그 결과는 다음과 같다.

1) cardiac function은 NIH군에 비하여 IRH군에서 60% 억제 효과가 있었다. 심근 ATP농도는 NIH군에 비하여 IH군에서는 50% 감소가 나타났으며 다시 재관류한 IRH군에서는 IH군에 비하여 33%의 증가를 나타내었다. 심근 creatine phosphate량은 NIH군을 기준으로 IH군에서는 31% 감소하였으나, IRH군에서는 완전히 회복되었다. 심근  $Ca^{+2}$ 량은 NIH군에 비하여 IH군에서는 24% 감소 하였다.

2) 인삼투여시 cardiac function은 대조군과 별 차이가 없었다. 심근 ATP농도는 대조군에 비해 NIH군과 IH군에서 높은 값을, IRH군에서는 낮은 값을 나타내었으나 유의성 있는 차이는 없었다. 심근 creatine phosphate량은 대조군에 비하여 NIH군에서 45%, IH군에서는 47%의 유의성 있는 높은 값을 나타내었고, IRH군에서는 10% 높았으나 유의성은 없었다. 심근  $Ca^{+2}$ 량은 대조군과 차이는 없었으나 허혈로 인한 감소현상이 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 본 실험 모델에서 인삼은 허혈후 재관류시의 심근에는 별 영향이 없으나, 허혈시에는 심근의 에너지대사에 영향을 주어 보호작용을 나타내는 것으로 사료된다.

감사의 말씀 : 1987년도 서울대학교병원 특진 연구비 보조로 이루어진것임.

## 문 헌

- 1) Ganote, C.E., Liu, S.Y., Safavi, S. and Kaltembach, J.D.: Anoxia, calcium and contracture as mediators of myocardial enzyme release. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 13, 93 (1981).
- 2) Ganote, C.E., Seabra-Gomes, R., Nayler, W.G. and Jennings, R.B.: Irreversible myocardial injury in anoxic perfused rat hearts. *Am. J. Pathol.* 80, 419 (1975).
- 3) Sakai, K., Gebhard, M.M., Spieckerman, P.G. and Bretschneider, H.J.: Enzyme release resulting

- from total ischemia and reperfusion in the isolated, perfused guinea pig heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **7**, 827 (1975).
- 4) Hearse, D.J., Humphrey, S.M. and Bullock, G.R.: The oxygen paradox and the calcium paradox: Two facets of the same problem. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **10**, 641 (1978).
  - 5) Henry, P.D., Shuchleib, R., Davis, J., Weiss, E.S. and Sobel, B.E.: Myocardial contracture and accumulation of mitochondrial calcium in ischemic rabbit heart. *Am. J. Physiol.* **233**, H677 (1977).
  - 6) Muir, A.R.: A calcium-induced contracture of cardiac muscle cells. *J. Anat.* **102**, 148 (1968).
  - 7) Yates, J.C. and Dhalla, N.S.: Structural and functional changes associated with failure and recovery of hearts after perfusion with  $Ca^{+2}$  free medium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **7**, 91 (1975).
  - 8) Frank, J.S. and Rich, T.L.:  $Ca^{+2}$  depletion and repletion in the heart: Age-dependent changes in the sarcolemma. *Am. J. Physiol.* **245**, 11343 (1983).
  - 9) Ruigrok, T.J.C., Boink, A.B., Slade, A., Zimmerman, A.N.E., Meijler, F.L. and Nayler, W.G.: The effect of verapamil on the calcium paradox. *Am. J. Pathol.* **98**, 769 (1980).
  - 10) Zimmerman, A.N.E. and Hulsmann, W.G.: Paradoxical influence of calcium ions on the permeability of the cell membranes of the isolated rat heart. *Nature* **211**, 646 (1966).
  - 11) Hearse, D.J., Baker, J.E. and Humphrey, S.M.: Verapamil and the calcium paradox. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **12**, 733 (1980).
  - 12) Watts, J.A., Koch, C.D. and LaNoue, K.F.: Low  $Ca^{+2}$  reperfusion of ischemic rat hearts. *Federation Proc.* **38**, 976 (1979).
  - 13) Reibel, D.K. and Rovetto, M.J.: Myocardial ATP synthesis and mechanical function following oxygen deficiency. *Am. J. Physiol.* **234**, H620 (1978).
  - 14) Crevey, B.J., Langer, G.A. and Frank, J.S.: Role of  $Ca^{+2}$  in the maintenance of rabbit myocardial cell membrane structural and function integrity. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **10**, 1081 (1978).
  - 15) Alto, L.E. and Dhalla, N.S.: Myocardial cation contents during induction of calcium paradox. *Am. J. Physiol.* **237**, H713 (1979).
  - 16) Nayler, W.G. and Grinwald, P.M.: The effect of verapamil on calcium accumulation during the calcium paradox. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **13**, 435 (1981).
  - 17) Shen, A.C. and Jennings, R.B.: Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury. *Am. J. Pathol.* **67**, 417 (1972).
  - 18) Watt, J.A., Koch, C.D. and LaNoue, K.F.: Effect of  $Ca^{+2}$  and heart function after ischemia. *Am. J. Physiol.* **238**, H909 (1980).
  - 19) Nishioka, K. and Jarmakani, J.M.: Effect of ischemia on mechanical function and high energy phosphate in rabbit myocardium. *Am. J. Physiol.* **242**, H1077 (1982).
  - 20) Ohhara, H., Kanaide, H., Yoshimura, R., Okada, M. and Nakamura, M.: A protective effect of coenzyme  $Q_{10}$  on ischemia and reperfusion of the isolated rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **13**, 65 (1981).
  - 21) Vary, T.C., Angelakos, E.T. and Schaffer, S.W.: Relationship between adenine nucleotide metabolism and irreversible tissue damage in isolated perfused rat heart. *Cir. Res.* **45**, 218 (1979).
  - 22) Swain, J.L., Sabina, R.L. and McHale, P.A.: Prolonged myocardial nucleotide depletion after brief ischemia in the open-chest dog. *Am. J. Physiol.* **242**, H818 (1972).
  - 23) Kloner, R.A., DeBoer, W.U. and Darsee, J.R.: Prolonged abnormalities of myocardium salvaged by reperfusion. *Am. J. Physiol.* **241**, H591 (1981).
  - 24) Dobbs, W.A., Richard, E.M. and Rousou, J.H.: Residual metabolism of the hypothermic arrested pig heart. *J. Surg. Res.* **31**, 319 (1981).
  - 25) Paratt, J.R. and Marshall, R.J.: The response of isolated cardiac muscle to acute anoxia: Protective effect of adenosine triphosphate and creatine phosphate. *J. Pharm. Pharmacol.* **26**, 427 (1973).
  - 26) Hearse, D.J., Stewart, D.A. and Brimbridge, M.V.: Myocardial protection during bypass and arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **72**, 880 (1976).



- 27) Reimer, K.A., Jennings, R.B. and Hill, M.L.: Total ischemia in dog hearts, *in vitro*: II, High energy phosphate depletion and associated defects in energy metabolism, cell volume regulation, and sarcolemmal integrity. *Circ. Res.* **49**, 901 (1981).
- 28) Katz, A.M.: The contractile proteins of the heart. *Physiol. Rev.* **50**, 63 (1970).
- 29) Shen, A.C. and Jennings, R.B.: Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *Am. J. Pathol.* **67**, 441 (1972).
- 30) Narita, H., Nagao, T., Sato, M., Nakajima, H. and Kiyomoto, A.: Ischemia-reperfusion induced elevation of diastolic tension in the isolated guinea pig heart and the effects of calcium antagonists. *Jpn. Heart. J.* **24**, 277 (1983).
- 31) Bush, L.R., Li, R-P., Shlafer, M., Jolly, S.R. and Lucchesi, B.R.: Protective effects of diltiazem during myocardial ischemia in isolated cat hearts. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **218**, 653 (1981).
- 32) Nagao, T., Matrib, M.A., Franklin, D., Millard, R.W. and Schwartz, A.: Effects of diltiazem, calcium antagonist on regional myocardial function and mitochondria after brief coronary occlusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **12**, 29 (1980).
- 33) Jolly, S.R., Menahan, L.A. and Gross, G.L.: Diltiazem in myocardial recovery from global ischemia and reperfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **13**, 359 (1981).
- 34) Zamanis, A., Verdetti, J. and deleiris, J.: Reduction of ischemia-induced myocardial necrosis in the rat with permanent coronary artery occlusion under the effect of diltiazem. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **14**, 53 (1982).
- 35) Follette, D.M., K.H., Liversay, J.J., Nelson, R. L., Maloney, J.V. and Buckberg, G.D.: Citrate reperfusion of ischemic heart in cardiopulmonary bypass. *Forum.* **27**, 244 (1976).
- 36) Shine, K.I., Douglas, A.M. and Ricchiuti, N.V.: Calcium, strontium and barium movements during ischemia and reperfusion in rabbit ventricle. *Circ. Res.* **43**, 712 (1978).
- 37) Fleckenstein, A.: Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. *Annu. Rev. Pharmacol.* **17**, 149 (1977).
- 38) Reimer, K.A., Lowe, J.E. and Jennings, R.B.: Effect of the calcium antagonist verapamil on necrosis following temporary coronary artery occlusion in dogs. *Circulation* **55**, 581 (1977).
- 39) Brekhman, I.I. and Dardymov, I.V.: New substances of plant origin with increase nonspecific resistance. *Ann. Rev. Pharmacol.* **9**, 419 (1969).
- 40) 김낙두, 김봉기, 이혜선 : 흰쥐 심장의 수축력에 미치는 인삼성분의 효과, *약학회지*, **26**, 239 (1982).
- 41) 오우택, 김낙두 : 인삼이 심장 수축력과 소포체 기능에 미치는 영향(제 1 보). *약학회지*, **27**, 155 (1983).
- 42) 신원, 김낙두, 오우택, 고광호 : 인삼을 경구투여한 흰쥐 심장근의 수축력 퇴화율 억제에 미치는 작용기전 연구. *약학회지*, **29**, 217 (1985).
- 43) Sung, B.Y. and Kim, N.D.: The effect of Ginseng on heart contraction and sarcoplasmic reticulum function(II): The effect of Ginseng on  $^{45}\text{Ca}^{+2}$  uptake by sarcoplasmic reticulum fragments of rat heart. *Arch. Pharm. Res.* **6**, 69 (1983).
- 44) Neely, J.R. and Rovetto, M.J.: Techniques for perfusing isolated rat hearts. *Methods in Enzymology*, edited by Hardman, J.G., O'Malley, B.W. New York, Academic. **39**, 43 (1975).
- 45) Williamson, J.R. and Corkey, B.E.: Assays of intermediates of the citric acid cycle and related compounds of fluorometric enzyme methods.: *Methods in Enzymology*, edited by Louvenstein, J.M. New York, Academic, **13**, 434 (1969).
- 46) Lamprecht, W., Stern, P., Heinz, F. and Weisser, H.: Creatine phosphate, determination with creatine kinase, hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase.: *Methods of Enzymatic Analysis*, edited by Bergmeyer, H.U. New York, Academic Press. **4**, 1777 (1974).
- 47) Dolara, P., Agresti, A., Giotti, A. and Pasquini, G.: Effect of taurine on calcium kinetics of guinea-pig heart. *Eur. J. Pharmacol.* **24**, 352 (1973).
- 48) Franoni, F., Martini, F., Stendardi, I., Matucci, R., Zilletti, L. and Giotti, A.: Effect of taurine on calcium levels and contractility in guinea-pig

- ventricular strips. *Biochem. Pharmacol.* 31, 3181 (1982).
- 49) Zimmerman, A.N.E., Daems, W., Hulsmann, W.C., Snijder, J., Wisse, E. and Durrer, D.: Morphological changes of heart muscle caused by successive perfusion with calcium-free and calcium-containing solutions (calcium paradox). *Cardiovas. Res.* 1, 201 (1967).
- 50) Kramer, J.H., Chovan, J.P. and Schaffer, S.W.: Effect of taurine on calcium paradox and ischemic heart failure. *Am. J. Physiol.* 240, H238 (1981).
- 51) Langer, G.A.: Structure and function of the myocardial surface. *Am. J. Physiol.* 235, H461 (1978).
- 52) Hearse, D.J., Humphrey, S.M. and Bullock, G.R.: Reoxygenation, reperfusion and the calcium paradox: Studies of cellular damage and enzyme release.: *Enzyme in Cardiology*. edited by Hearse, D.J. Wiley & Sons, Chichester. 417 (1978).
- 53) Tomlinson, C.W. and Dhalla, N.S.: Myocardial contractility II. Effect of changes in cardiac function on the cellular distribution of calcium in the isolated rat heart. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 50, 853 (1972).
- 54) Tomlinson, C.W. and Dhalla, N.S.: Excitation-contraction coupling in heart. IX. changes in the intracellular stores of calcium in failing hearts due to substrate lack and oxygen. *Cardiovas. Res.* 8, 470 (1973).
- 55) Lee, H.J., Hahn, T.R. and Kim, S.J.: Biochemical and pharmacological study on the bioactive principles of Panax Ginseng. *Korean Biochem. J.* 12, 91 (1979).